

论著·临床研究

连续血液净化对严重脓毒症患儿 T 细胞亚群的影响

袁远宏¹ 肖政辉¹ 张慧² 范江花¹ 张新萍¹ 卢秀兰¹ 胥志跃¹ 罗海燕¹

(1. 湖南省儿童医院急救中心, 湖南长沙 410007; 2. 湖南省儿童医院肝病中心, 湖南长沙 410007)

[摘要] **目的** 探讨连续血液净化(CBP)治疗对严重脓毒症患儿T细胞亚群及预后的影响。**方法** 选择严重脓毒症患儿42例,随机给予常规治疗(对照组,22例)和常规治疗+CBP治疗(CBP组,20例),分别于治疗前及治疗后3d、7d动态测定外周血调节性T细胞亚群的变化及相关临床指标。**结果** CBP组患儿PICU入住时间及机械通气时间均明显短于对照组(均 $P<0.05$);CPB组28d病死率显著低于对照组($P<0.05$)。CPB组治疗后3d和7d $CD3^+$ 、 $CD4^+$ 、 $CD8^+$ T淋巴细胞百分比及PCIS评分较治疗前明显升高,差异均有统计学意义($P<0.05$)。CPB组治疗后3d $CD3^+$ 、 $CD4^+$ 、 $CD8^+$ T淋巴细胞百分比及PCIS评分明显高于对照组($P<0.05$);治疗后7d $CD3^+$ 、 $CD4^+$ 、 $CD8^+$ T淋巴细胞百分比、 $CD4^+/CD8^+$ 比值及PCIS评分均较对照组明显升高($P<0.05$)。**结论** CBP治疗可以提高严重脓毒症患儿受抑制的免疫功能,改善患儿预后。

[中国当代儿科杂志, 2014, 16(2): 194-197]

[关键词] 连续血液净化;脓毒症;T淋巴细胞;小儿危重病例评分;儿童

Impact of continuous blood purification on T cell subsets in children with severe sepsis

YUAN Yuan-Hong, XIAO Zheng-Hui, ZHANG Hui, FAN Jiang-Hua, ZHANG Xin-Ping, LU Xiu-Lan, XU Zhi-Yue, LUO Hai-Yan. Intensive Care Unit, Hunan Province Children's Hospital, Changsha 410007, China (Email: xzhh2010@163.com)

Abstract: Objective To investigate the impact of continuous blood purification (CBP) on T-cell subsets and prognosis in children with severe sepsis. **Methods** A total of 42 children with severe sepsis were randomly divided into a control group ($n=22$) and a CBP group ($n=20$). The patients in the control group received conventional treatment, while those in the CBP group underwent continuous veno-venous hemofiltration daily 12-24 hours for 3 days besides conventional treatment. Changes in clinical variables and in peripheral blood regulatory T cell subsets were assessed 3 and 7 days after treatment. **Results** The pediatric intensive care unit length of stay and duration of mechanical ventilation were significantly shortened and the 28-day mortality rate was significantly lower in the CPB treatment group as compared with the control group ($P<0.05$). In the CBP treatment group, the percentage of $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$ T cell populations and PCIS scores were significantly higher at 3 and 7 days after treatment than before treatment ($P<0.05$). At 7 days after treatment, the percentage of $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$ T cell populations, $CD4^+/CD8^+$ ratio and PCIS scores were significantly higher in the CBP group than in the control group ($P<0.05$). **Conclusions** The CBP treatment may counteract the suppression of immune function and thus improve prognosis in children with severe sepsis.

[Chin J Contemp Pediatr, 2014, 16(2): 194-197]

Key words: Continuous blood purification; Sepsis; T lymphocytes; Pediatric critical illness score; Child

脓毒症(sepsis)是由感染源引起的全身炎症反应综合征(SIRS),是临床危重症患者主要死

亡原因之一,且目前抗感染等治疗效果不是很理想。目前认为,脓毒症患者存在着不同程度的细

[收稿日期] 2013-06-01; [接受日期] 2014-01-03

[基金项目] 十二五“儿科急救救治相关技术的研究与推广应用”科技支撑项目(2012BAI04B00)。

[作者简介] 袁远宏,男,本科,主治医师。

[通信作者] 肖政辉,女,教授。

胞免疫功能紊乱或损害。因此,对免疫抑制状态的调控已成为当前治疗的热点。李金宝等^[1]研究连续血液净化(continuous blood purification, CBP)对多器官功能障碍(MODS)患者免疫功能的影响显示,经过CBP治疗后,存活组CD3⁺、CD4⁺ T淋巴细胞百分比及CD4⁺/CD8⁺比值均有不同程度升高。李轶男等^[2]也发现CBP和胸腺肽a1治疗均具有增强严重脓毒症患者细胞免疫功能、促进器官功能恢复并最终改善预后的作用,其中CBP治疗效果出现更早、更显著。本研究采用前瞻性的随机对照临床研究方法,探讨CBP治疗是否可以提高严重脓毒症患者受抑制的免疫功能以恢复患儿免疫稳态,改善严重脓毒症患儿的预后。

1 资料与方法

1.1 研究对象及分组

选取2012年4月至2013年4月我院儿科重症监护病房(PICU)收治的严重脓毒症患者,符合2005年国际脓毒症会议提出的严重脓毒症诊断标准^[3],排除自身免疫性疾病、免疫缺陷病、超敏反应性疾病、肿瘤、糖尿病、创伤和手术相关性疾病及近期接受免疫抑制剂治疗的患儿,并将治疗不足24h死亡或出院者及未能坚持治疗患儿剔除。该研究已获得医院伦理委员会的批准和患儿家长的知情同意。

共入选42例患儿,原发病包括重症肺炎17例,颅内感染11例,肠道感染8例,感染性心内膜炎6例。采用前瞻性、随机对照临床研究的设计方法将42例患儿随机分为对照组和CPB组。对照组22例患儿中(已将治疗过程中合并急性肾损伤需血液净化的患儿剔除,但未归入血液净化组),男14例,女8例,平均年龄4.0±0.9岁。血液净化组20例患儿中,男13例,女7例,平均年龄4.3±0.7岁。两组患儿性别和年龄构成比较差异无统计学意义(P>0.05)。

1.2 治疗方法

两组均按照2008年脓毒症全球治疗指南的早期集束化治疗方案^[4]进行治疗。除此常规治疗外,CPB组患儿在严重脓毒症确诊后12h内行CPB治疗,采用连续性静脉-静脉血液滤过(CVVH)方式,每次12~24h,每日1次,连续3d。血

液净化机采用意大利Pfisma床旁血滤机,滤器材料应采用新型聚枫膜中空纤维;取左侧锁骨下静脉、颈静脉或股静脉插管;连续治疗血流量为3~8 mL/(min·kg);超滤量为100~250 mL/h;肝素25~100 u/kg,维持量10~25 u/(kg·h),根据凝血功能监测调整;置换液配方为改良Port配方(南京军区总院)。

1.3 检测指标及方法

于治疗前、治疗后3d、治疗后7d采取静脉全血,测定T细胞亚群CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺淋巴细胞百分比、CD4⁺/CD8⁺比值并进行小儿危重病例评分(PCIS)^[5],并同时记录患儿入组时的一般指标,以及PICU治疗时间、机械通气时间和28d病死率等临床指标。

1.4 统计学分析

采用SPSS 16.0统计软件对相关数据进行统计学分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用t检验,治疗前后各指标数值比较使用方差分析;计数资料组间比较采用 χ^2 检验。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床转归及预后

CPB组患儿28d内入住PICU时间及机械通气时间均明显短于对照组,差异有统计学意义(均P<0.05);CPB组28d病死率显著低于对照组,差异亦有统计学意义(P<0.05)。见表1。

表1 两组患儿临床转归及预后比较

组别	例数	机械通气时间 ($\bar{x} \pm s, d$)	PICU治疗时间 ($\bar{x} \pm s, d$)	28d病死率 [例(%)]
对照组	22	11±6	16±7	7(32)
CPB组	20	8±4	13±4	3(15)
t(χ^2)值		2.524	2.034	(10.11)
P值		0.023	0.036	0.002

2.2 T细胞亚群及PCIS

两组患儿在治疗前T淋巴细胞亚群百分比和PCIS评分差异无统计学意义。观察期间内两组患儿T淋巴细胞亚群百分比和PCIS评分较治疗前均呈上升趋势,其中CPB组治疗后3d和7dCD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ T淋巴细胞百分比及PCIS评分升高,

差异均有统计学意义 ($P<0.05$)，对照组治疗后 3 d $CD3^+$ 、 $CD4^+$ 、 $CD8^+$ T 淋巴细胞百分比及 PCIS 评分有升高，但差异均无统计学意义，仅治疗后 7 d $CD3^+$ T 淋巴细胞百分比明显升高，与治疗前比较差异有统计学意义 ($P<0.05$)。CPB 组治疗后 3 d $CD3^+$ 、 $CD4^+$ 、 $CD8^+$ T 淋巴细胞百分比及 PCIS

评分较对照组升高，差异有统计学意义 ($P<0.05$)， $CD4^+/CD8^+$ 比值也较对照组升高，但差异无统计学意义；治疗后 7 d CPB 组 $CD3^+$ 、 $CD4^+$ 、 $CD8^+$ T 淋巴细胞百分比、 $CD4^+/CD8^+$ 比值及 PCIS 评分均较对照组同期升高，差异有统计学意义 ($P<0.05$)。见表 2。

表 2 两组患儿 T 细胞亚群及 PCIS 的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	$CD3^+$ T (%)	$CD4^+$ T (%)	$CD8^+$ T (%)	$CD4^+$ T/ $CD8^+$ T	PCIS
对照组						
治疗前	22	45 ± 7	25.4 ± 5.8	16.3 ± 3.1	1.0 ± 0.6	64 ± 4
治疗后 3 d	20	51 ± 6	27.7 ± 1.7	17.9 ± 4.6	1.5 ± 1.8	69 ± 5
治疗后 7 d	15	57 ± 4 ^b	29.0 ± 2.5	20.3 ± 5.2	1.5 ± 0.5	75 ± 6
CPB 组						
治疗前	20	42 ± 5	24.2 ± 6.7	16.7 ± 2.9	1.0 ± 0.7	63 ± 4
治疗后 3 d	19	63 ± 4 ^{ab}	30.3 ± 2.6 ^{ab}	23.5 ± 3.6 ^{ab}	1.5 ± 0.6 ^b	74 ± 5 ^{ab}
治疗后 7 d	17	68 ± 5 ^{ac}	33.1 ± 4.2 ^{ac}	24.0 ± 2.7 ^a	1.6 ± 1.0 ^a	79 ± 5 ^{ac}

注：a 为与对照组同期比较， $P<0.05$ ；b 为与同组治疗前比较， $P<0.05$ ；c 为与同组治疗后 3 d 比较， $P<0.05$ 。

3 讨论

脓毒症及相关的 MODS 是当前重症监护病房内患儿死亡的主要原因。传统的治疗采用综合治疗，包括抗感染、支持治疗、稳定内环境、保护脏器功能等，其病死率很高，达 50%~70%^[6]。随着对脓毒症致病机制基础研究的不断深入，人们认识到机体免疫状态紊乱在脓毒症的发生、发展中起着重要作用。近年来的研究也提示，脓毒症的发生、发展与机体免疫功能密切相关，失控的全身炎症反应导致机体免疫失调是其主要的病理生理基础^[7]。

T 淋巴细胞亚群的变化反映了人体细胞免疫机能的改变。外周血淋巴细胞分化抗原中 $CD3^+$ 细胞为全血成熟 T 淋巴细胞， $CD4^+$ 细胞为辅助 / 诱导 T 淋巴细胞， $CD8^+$ 细胞可对靶细胞产生细胞介导的细胞毒作用，即直接杀伤带有特异性抗原的细胞或相应的靶细胞，对 $CD4^+$ 细胞具有调节性抑制作用， $CD4^+/CD8^+$ 比值可反映机体免疫功能状态， $CD4^+/CD8^+$ 比值降低反映细胞免疫功能的抑制^[8-9]。

如何改善脓毒症患者的免疫状况已成为目前治疗脓毒症的一个热点，有效的免疫调理治疗被认为是最终取得治疗突破的根本途径^[10-11]。CBP 在治疗脓毒症中使用越来越广泛，有研究表明 CBP 能改善脓症患者免疫失常，克服了既往血液透

析的“非生理性”治疗缺陷^[12]，为重症脓毒症的救治提供患者赖以生存的内环境稳态^[13]。CBP 治疗改善严重脓症患者免疫功能的机制目前并不清楚，可能机制有：(1) 通过滤过和吸附的机制，清除炎性介质^[14-15]，减轻炎症介质对免疫细胞功能的直接抑制，阻断病程向免疫抑制发展；(2) 减少淋巴细胞异常凋亡^[16-19]；(3) 改善脓症患者单核细胞分泌功能，提高其抗原递呈能力，使体内 Th1/Th2 比例达到平衡，使炎症和抗炎达到平衡，保持机体的内环境稳定^[20]；(4) 改善凝血功能^[21-22]；(5) 改善脓症患者内环境紊乱，加速内皮细胞功能的恢复，改善组织氧合和心肺功能，重建机体免疫系统内稳状态^[23-24]。

本研究观察 CBP 对严重脓症患者细胞免疫、PICS 评分及临床预后指标的影响，结果发现与对照组比较，CBP 组 28 d 内机械通气时间、ICU 治疗时间均有缩短，28 d 病死率均有下降，提示 CBP 治疗在一定程度上可以改善脓症患者疾病的转归。在对 T 细胞亚群的影响和 PCIS 评分方面，CPB 组治疗后 3 d 和 7 d $CD3^+$ 、 $CD4^+$ 、 $CD8^+$ T 淋巴细胞百分比及 PCIS 评分较治疗前均有升高，差异有统计学意义，且 CBP 组治疗 7 d 后 $CD3^+$ 、 $CD4^+$ 、 $CD8^+$ T 淋巴细胞比例、 $CD4^+/CD8^+$ 比值和 PCIS 评分亦明显高于对照组，提示 CBP 在改善脓症患者免疫功能方面存在积极作用。但因本研

究样本量较小, 本研究结果有待今后开展多中心的前瞻性研究进一步论证, 并进一步探讨CBP对严重脓毒症患者机体免疫功能影响的确切机制。

[参 考 文 献]

- [1] 李金宝, 邓小明, 朱科明. 连续性血液净化对多器官功能障碍综合征患者免疫功能的影响[J]. 中华急诊医学杂志, 2007, 16(3): 279-282.
- [2] 李铁男, 周立新, 强新华, 等. 连续血液净化和胸腺肽 Q1 对严重脓毒症细胞免疫和预后的前瞻性随机对照研究[J]. 中国危重病急救医学, 2009, 21(3): 139-142.
- [3] Goldstein B, Giroir B, Randolph A. International pediatric sepsis consensus conference: definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics [J]. *Pediatr Crit Care Med*, 2005, 6(1): 2-8.
- [4] Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock 2008[J]. *Intensive Care Med*, 2008, 34(1): 17-60.
- [5] 中华医学会儿科学会急救学组. 小儿危重病例评分法(草案)[J]. 中华儿科杂志, 1995, 33(6): 370-373.
- [6] 姚咏明, 盛忠勇. 重视对脓毒症本质的探讨[J]. 中华急诊医学杂志, 2005, 14(3): 185-186.
- [7] Bagshaw SM, Uchino S, Belomo R, et al. Septic acute kidney injury in critically ill patients: clinical characteristics and outcomes[J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2007, 2(9): 431-439.
- [8] 窦肇华, 张远强, 郭顺根. 免疫细胞学与疾病[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2004: 70-71.
- [9] 李太生, 邱志峰, 王爱霞, 等. HIV 感染和 AIDS 患者 T 淋巴细胞亚群免疫病理改变的研究[J]. 中华医学杂志, 2002, 82(20): 1391-1395.
- [10] Holchkiss RS, Karl IE. The pathophysiology and treatment of sepsis[J]. *N Engl J Med*, 2003, 348(2): 138-150.
- [11] Pugin J. Immunostimulation is a rational therapeutic strategy in sepsis[J]. *Novartis Found Symp*, 2007, 280(1): 21-27.
- [12] 季大袿, 龚德华. 应重视连续性血液净化在急性肾衰竭中的治疗作用[J]. 中国血液净化, 2004, 3(11): 581-582.
- [13] Bellomo R, Ronco C. Blood purification in the intensive care unit: evolving concepts[J]. *World J Surg*, 2001, 25(5): 677-683.
- [14] 王锦权, 陶晓根, 高玉华. 连续性血液净化对细胞因子清除机制的研究进展[J]. 中国急救医学, 2002, 22(10): 615-616.
- [15] Ronco C, Bonello M, Bordoni V, et al. Extracorporeal therapies in non-renal disease: treatment of sepsis and the peak concentration hypothesis[J]. *Blood Purif*, 2004, 22(1): 164-174.
- [16] Ratanarat R, Brendolan A, Ricci Z, et al. Pulse high-volume hemofiltration in critically ill patients: a new approach for patients with septic shock[J]. *Sem Dialysis*, 2006, 19(1): 69-74.
- [17] 马涛, 尤胜义. 淋巴细胞凋亡、免疫抑制和脓毒症[J]. 国外医学·外科学分册, 2005, 32(1): 35-38.
- [18] Hotchkiss RS, Tinsley KW, Swanson PE, et al. Sepsis-induced apoptosis causes progressive profound depletion of B and CD4⁺ T lymphocytes in humans[J]. *J Immunol*, 2001, 166(11): 6952-6963.
- [19] 董月青, 黄军华, 姚咏明. 脓毒症中 T 淋巴细胞凋亡及其调控研究进展[J]. 中国危重病急救医学, 2004, 16(6): 381-384.
- [20] 彭侃夫, 吴雄飞, 赵洪雯, 等. 血液净化治疗多器官功能衰竭对 Th1/Th2 影响的临床研究[J]. 第三军医大学学报, 2005, 29(18): 1877-1879.
- [21] Kushi H, Miki T, Sakagami Y, et al. Hemoperfusion with a polymyxin B fiber column decreases clotting activity[J]. *Therapeutic Apheresis Dialysis*, 2009, 13(6): 528-533.
- [22] 陶晓根, 王锦权, 承韶晖, 等. 连续性血液净化治疗对脓毒症患者凝血功能的影响[J]. 中国急救医学, 2006, 26(2): 90-92.
- [23] 黎磊石, 刘志红. 连续性血液净化: 一种协助重建机体免疫内稳状态的技术[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2003, 12(1): 1-2.
- [24] Chen ZH, Liu ZH, Yu C, et al. Endothelial dysfunction in patients with severe acute pancreatitis: improved by continuous blood purification therapy[J]. *Artificial Kidney Dialysis*, 2007, 30(5): 393-400.

(本文编辑: 邓芳明)